

Л.А. Любаковская, О.А. Захарова,
Е.А. Попович¹, Н.С. Гурина,
В.Н. Решетников¹

СИНТЕЗ ФЕНОЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ В КАЛЛУСЕ ЛИСТОВОГО И ЦВЕТКО- ВОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ СИРЕНИ СОРТА «МИХАИЛ ШОЛОХОВ»

Витебский государственный
медицинский университет

¹Центральный ботанический сад, г. Минск

В данной работе рассмотрено влияние гормоноподобных стимуляторов роста на содержание фенольных веществ в каллусе листового и цветкового происхождения сирени сорта «Михаил Шолохов».

ВВЕДЕНИЕ

Syringa vulgaris - кустарник из семейства маслиновые (Oleaceae), широко распространенный на территории республики Беларусь и стран СНГ. Листья, почки, цветки, кору применяют в народной медицине. Листья обладают анальгетическим, потогонным, противовоспалительным и жаропонижающим свойством. Цветки сирени используют для получения эфирного масла, используемого в парфюмерной промышленности [4,5,6]. Установлено, что в листьях содержатся д-маннит, кверцетин, рутинозиды [2,3], изокверцетин, астрагалин [2], гликозид синингин, горечи, аскорбиновая кислота [4]. Цветки содержат эфирные масла, фарнезол, синингин, фенол, синингопектин [4].

Клеточная культура представляет альтернативный источник различных соединений для медицины, парфюмерной промышленности и других отраслей народного хозяйства. В настоящее время большое внимание уделяется фундаментальным исследованиям поиска природных продуктов метаболизма растений, получаемых при помощи культуры клеток.

Культивируемые клетки, как правило, сохраняют способность к синтезу вторичных веществ, свойственных тому

виду растения, из которых они получены. На синтез вторичных метаболитов оказывают влияние как физические, так и химические факторы. Причем, их действие различно для различных культур. Поэтому основной целью исследований является оптимизация условий для получения клеточной культуры *in vitro*, которая бы обеспечивала как рост культуры, так и образование продуктов вторичного метаболизма.

Для культивирования каллусных тканей наибольшее распространение получила питательная среда Мурасиге и Скуга [7]. Однако на практике для каждого вида растений необходим индивидуальный подбор среды, и, процессы ее оптимизации возможны, только при постановке специальных экспериментов и применении методов математического планирования [1].

Цель исследования: определение содержания фенольных соединений в каллусе листового и цветкового происхождения в зависимости от концентрации и вида гормональных соединений.

Задачи исследования: выделение флавоноидов из листового и цветкового каллуса сорта Михаил Шолохов; определение содержания флавоноидов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Каллусные культуры были выращены на питательной среде Мурасиге и Скуга, минеральная часть которой оставалась без изменений, а в качестве органических добавок использовались регуляторы роста:

- 2,4-дихлорфеноксиуксусную кислоту (2,4-D) в концентрации от 0,1 до 1,0 мг/л;
- α-нафтилуксусную кислоту (NAA) в концентрации от 0,1 до 1,0 мг/л;
- бензиладенин (BA) в концентрации от 0,1 до 1,0 мг/л;
- сочетание этих компонентов.

Объектом исследования служили листовая и цветковая каллус сирени сорта Михаил Шолохов.

Лиофильно высушенный до постоянной массы каллус экстрагировали 96% этанолом в соотношении 1: 60 -1 час,

затем повторно 30 минут на водяной бане с обратным холодильником.

Содержание флавоноидов определяли после реакции с нитритом натрия в кислой среде и дальнейшей алкализацией, согласно методике Т. Siatka, М. Kasparova, [8]. К 5 мл этанольного экстракта добавляли 3 мл серной кислоты (0,2 мол/л), 3 мл нитрита натрия (3 мол/л), 3 мл гидроксида натрия (10%) и доводили водой очищенной до 25 мл. Количество параллелей - 5. Интенсивность окрашенных соединений определяли спектрофотометрически на СФ-26 при $\lambda=420$ nm. Содержание флавоноидов рассчитывали на кверцетин (1мг на 1г сухого веса каллуса).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные о содержании флавоноидов в каллусной культуре цветкового и листового происхождения представлены в таблице.

Таблица. Содержание фенольных соединений в цветковом и листовом каллусе

Регуляторы роста (мг/л)	Листо- вой каллус (мг/г)	Цвет- ковый каллус (мг/г)
0,1 NAA	20,97	17,23
0,5 NAA	23,12	18,21
1,0 NAA	18,71	18,99
0,1 2,4 D	20,70	15,20
0,5 2,4 D	22,58	17,40
1,0 2,4 D	20,23	19,45
0,1 BA	11,39	15,17
0,5 BA	18,99	16,68
1,0 BA	8,63	10,09
0,1 NAA + 0,1 BA	18,46	19,54
0,5 NAA + 0,5 BA	23,63	12,09
1,0 NAA + 1,0 BA	23,93	9,62
0,1 2,4D + 0,1 BA	22,90	10,16
0,5 2,4D + 0,5 BA	17,86	12,30
1,0 2,4D + 1,0 BA	21,39	9,46

На основании анализа, представленных в таблице данных, установлено, что в листовом каллусе наибольшее содержание флавоноидов наблюдается при наличии в среде 1,0 мг/г NAA и 1,0 мг/г BA, что на 22% выше, чем в каллусе, вы-

ращенном на питательной среде в присутствии 1,0 мг/г NAA и на 64% выше, чем в каллусе, выращенном на питательной среде в присутствии 1,0 мг/г BA. Уменьшение концентрации NAA и BA (0,5-0,1мг/г) приводит к снижению содержания флавоноидов на 1,3 и 23 %, соответственно. Совместное присутствие 1,0 мг/г 2.4-D и 1,0 мг/г BA приводило к снижению содержания фенольных соединений по сравнению с 1,0 мг/г NAA и 1,0 мг/г BA на 10,7%.

В цветковом каллусе наибольшее содержание флавоноидов наблюдается при наличии в среде 0,1 мг/г NAA и 0,1 мг/г BA, что на 12% выше, чем в каллусе, выращенном на питательной среде в присутствии 0,1 мг/г NAA и на 22% выше, чем в каллусе, выращенном на питательной среде в присутствии 0,1 мг/г BA. Увеличение концентрации NAA и BA (0,5-1,0мг/г) приводит к снижению содержания флавоноидов на 38 и 51 %, соответственно. Совместное присутствие 0,1 мг/г 2.4-D и 0,1 мг/г BA приводило к снижению содержания фенольных соединений по сравнению с 0,1 мг/г NAA и 0,1 мг/г BA на 48%.

Сравнение данных по содержанию флавоноидов в листовом и цветковом каллусе представлено на рис. 1,2.

Наибольшее содержание флавоноидов обнаружено в листовом каллусе при концентрации 1,0 мг/г NAA и 1,0 мг/г BA (рис.2). В цветковом каллусе при этих условиях содержание флавоноидов было на 59,8% меньше. Максимальный выход флавоноидов цветкового каллуса наблюдается при наличии в среде 0,1 мг/г NAA и 0,1 мг/г BA, в то время в листовом каллусе, при этой концентрации, содержание флавоноидов было на 5,5% меньше.

ВЫВОДЫ

1. Введение в питательную среду гормональных соединений обеспечивает регуляцию синтеза фенольных соединений в культивируемых *in vitro* клетках и тканях.

2. Для цветкового каллуса присутствие в среде культивирования α -нафтилуксусной кислоты (NAA) и бензиладенина (BA) в концентрации от 0,1 мг/л

способствует более интенсивному синтезу фенольных соединений. Следовательно, данный гормональный состав может быть использован для направленного синтеза фенольных соединений в каллусе цветкового происхождения.

3. Присутствие в среде культивирования α -нафтилуксусной кислоты (НАА) и бензиладенина (БА) в концентрации от 1,0 мг/л способствует более интенсивному синтезу фенольных соединений в листовом каллусе. Следовательно, данный гормональный состав может быть использован для направленного синтеза фенольных соединений в каллусе листового происхождения.

4. Таким образом, для каждого вида каллусной культуры характерны свои особенности культивирования, которые и должны быть учтены при их выращивании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Катаева Н.В. Параметрическое регулирование морфогенеза и клонального микроразмножения растений на примере герберы и фрезии: Дис. ... канд. биол. наук. М., 1982. 142 с.
2. Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Гриненко Н.А. // Химия природных соединений 1990г., №1 с. 98-99.
3. Куркин В.А. Запесочная Г.Г. Кривенчук П.Е. // Химия природных соединений 1980г. №3 с.418.
4. "Лікарські рослини". Енциклопедичний довідник за редакцією академіка АН УРСР А.М. Гродзінського. – Київ: Головна редакція української радянської енциклопедії імені М.П. Бажана 1989.- с. 70.
5. Энциклопедический словарь лекарственных растений и продуктов животного происхождения/ под ред. Г.П.Яковлева и К.Ф.Блиновой./ С-П.: спец. Литература, 1999.
6. G.A. Balinet. Planta medica, P.- 19, №3, 215 (1971).
7. Murashige T., Skoog F.//Phisiol. Plantarum.1962. Vol.15. P.473-497.
8. T.Siatka, M. Kasparova. // Growth and flavonoid production in Bellis perennis L.

Callus Cultures. Herba Polonica/
T.XLVII, 2001. N 1.

SUMMARY

L.A. Lyubakovskaya, O.A. Zakharova,
E.A. Popovich, N.S. Gurina,
V.N. Rechetnicov

THE SYNTENSIS OF PHENOLIC SUBSTANCES IN LEAVES AND FLOWERS CALLUS OF SIRINGA VULGARIS 'MICHAIL SHOLOCHOV'.

This article deals with the influence of hormone-like stimulators on the phenolic substances content in leaves and flowers callus of Siringa vulgaris 'Michail Sholochov'.

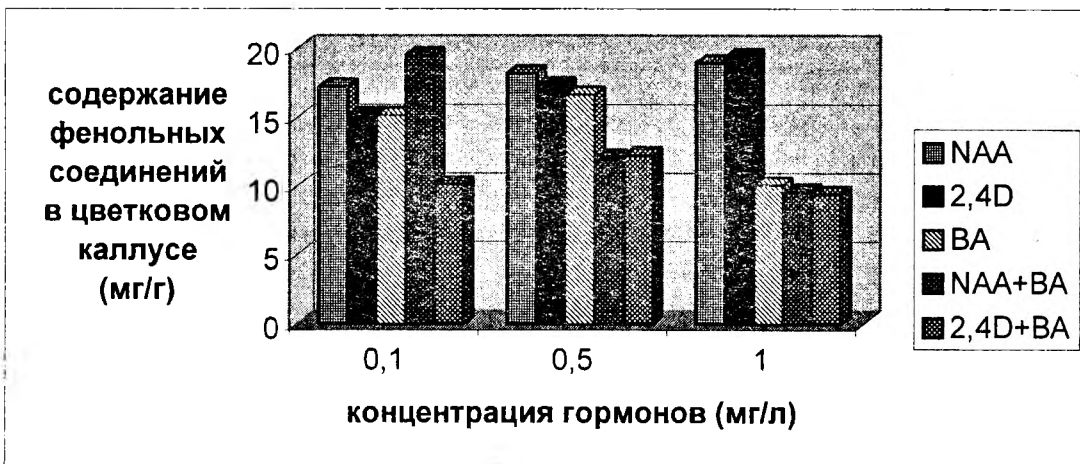


Рис.1 Зависимость содержания фенольных соединений в каллусе цветкового происхождения от вида и концентрации гормонов.

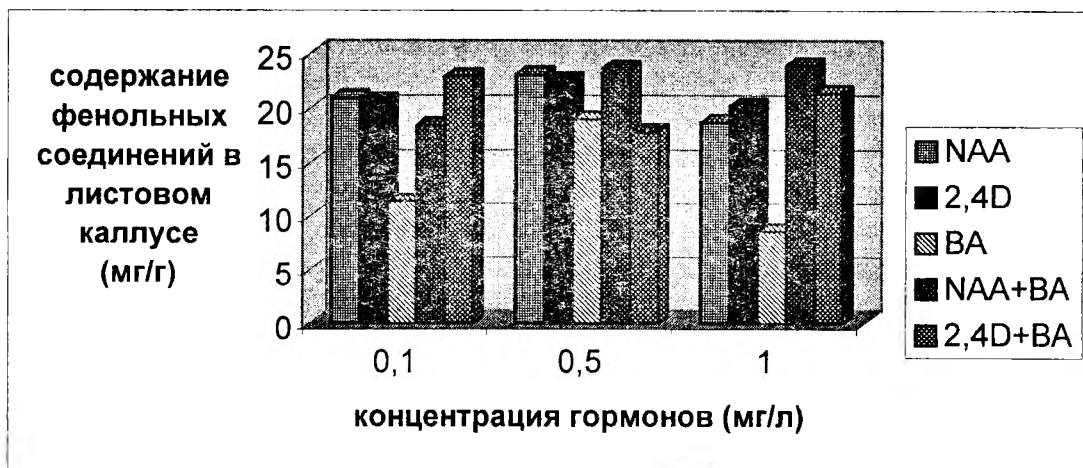


Рис.2 Зависимость содержания фенольных соединений в каллусе листового происхождения от вида и концентрации гормонов.